



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

PROJECTO DE RASTREIO DE PORFIRIAS AGUDAS NO SERVIÇO DE URGÊNCIA

*Protocolo de Aplicação do Teste de Hoesch no Serviço de
Urgência do Hospital de Santo António*

José Guilherme Gonçalves Pereira de Assis Cardoso

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina

Porto, 2017

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina submetida ao
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto
Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº. 228, 4050-313, Porto, Portugal

PROJECTO DE RASTREIO DE PORFIRIAS AGUDAS NO SERVIÇO DE URGÊNCIA

*Protocolo de Aplicação do Teste de Hoesch no Serviço de
Urgência do Hospital de Santo António*

José Guilherme Gonçalves Pereira de Assis Cardoso

6º Ano do Mestrado Integrado em Medicina
Número Institucional: 201107460
Endereço Eletrónico Institucional: mim11139@icbas.up.pt

Orientador: Dr. Arlindo Paulo de Sá Guimas

Licenciado em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
Especialista em Medicina Interna pelo Hospital de Santo António, Porto
Atividade Assistencial nas Unidade Intermédia Médico-Cirúrgica do Centro Hospitalar
Universitário do Porto e Unidade das Doenças Hereditárias do Metabolismo (Adultos)

“(...) another woman went through the same history of suffering. Whenever I choose, I can see before me her distorted features where she lay there in exceptional pain but otherwise obviously healthy without any temperature and without abdominal tenderness or muscular defense. I remember her gradual decay, her hopelessness when she, in spite of the many journeys to the hospital, never could get her health back between the attacks, her increasing nervousness and so the tottering gait, the ascending paralysis, the sloppy hands, the rigid facial expression, and finally the resignation when she, after a final try, had again been sent home from the hospital without any other diagnosis than – only nervousness. Now, she had not any attacks anymore, she just deteriorated and got more and more dependent on help from her surroundings. At last she stayed silent and immovable in her bed, tired of living and probably welcoming death when one late afternoon she came in disguise of a respiratory paralysis.

Which was this curious disease that ravaged in case after case? I phoned a colleague who had helped in her care. Respiratory paralysis pointed to some kind of organic nerve disease, but which? We talked for a long time without coming up with any ideas. (...)”

Einar Wallquist, 1939

Capítulo Arv (“Hereditariedade”), *Få mans land* (“Uma Terra de Poucos”)

Agradecimentos

Aos meus pais, pela participação que, desde sempre, tiveram na minha formação.
Agradeço a sua exigência, carinho e apoio incondicional.

Ao meu irmão, Frederico, pelo exemplo, amizade e paciência que apenas um
irmão mais velho pode conceder.

À Rita, pela companhia, cumplicidade e apoio.
Agradeço o seu exemplo de sensibilidade e humanidade.

À minha família e amigos, pelo apoio que deram neste caminho.
Em especial, ao Tio Vitor, pelo seu testemunho de humanidade na Medicina.

Ao Dr. Arlindo Guimas, meu orientador, por toda a disponibilidade, empenho e
dedicação, possibilitando a realização deste trabalho.

A Deus, por me fazer procurar a generosidade e humildade na Medicina.

Resumo

As crises agudas de porfiria estão descritas na literatura médica como uma causa incomum de dor abdominal que geralmente remete o doente para o serviço de urgência. Classicamente, são doentes que apresentam diversas crises, realizam um elevado número de exames e chegam mesmo a ser intervencionados sem que seja estabelecido um diagnóstico adequado. Em Portugal, a incidência das crises de porfiria é desconhecida e a doença está provavelmente subdiagnosticada. A baixa suspeita clínica para o diagnóstico e a complexidade inerente à confirmação do mesmo contribui para este facto. Estão descritos testes simples para o rastreio de crises agudas de porfiria que passam pela identificação qualitativa de porfobilinogénio na urina, que estão invariavelmente elevados.

Este projeto visa a aplicação do teste qualitativo de Hoesch para rastreio de crises agudas porfíricas nos doentes que recorrem ao serviço de urgência com dor abdominal de causa indeterminada. Está prevista a realização de um estudo epidemiológico observacional centrado no serviço de urgência que estudará a aplicação de um algoritmo de suspeita para aplicação do teste de rastreio.

Este estudo permitirá divulgar, informar e sensibilizar a comunidade médica para a patologia em causa, descrever a população em risco, identificar casos positivos, negativos e falsos-positivos, oferecendo acompanhamento e tratamento adequado. Por fim, será possível avaliar a validade do teste e, como tal, a sua pertinência como método complementar de rastreio em doentes com suspeita de crise de porfiria aguda no serviço de urgência.

Palavras-chave: Doenças Raras, Doenças Genéticas, Doenças Metabólicas, Porfirias Agudas, Reação de Ehrlich Invertida, Teste de Hoesch, Rastreio

Abstract

Acute porphyria attacks are described in the medical literature as an uncommon cause of abdominal pain that ordinarily leads the patient to the emergency ward. Typically, these are patients with a large number of acute attacks, a high number of diagnostic exams taken, and even being subjected to surgical procedures without an adequate diagnosis. In Portugal, the incidence of acute attacks is undetermined and the disease is probably underdiagnosed. The low clinical suspicion for the diagnosis and the complexity inherent to its confirmation contributes to this fact. Simple tests for the screening of acute porphyria attacks are based on the qualitative identification of porphobilinogen levels in urine, which are invariably raised.

This project proposes the application of the Hoesch qualitative test for the screening of acute porphyric crisis in patients who attend the emergency ward suffering from abdominal pain of unidentified cause. An observational epidemiological study focused on the emergency ward will be carried out, which will study the application of a suspicion algorithm for the application of the screening test.

This study will make it possible to publicize, inform and sensitize the medical community to the pathology in question, describe the population at risk, identify positive, negative and false-positive cases, and provide adequate follow-up and treatment. Ultimately, it will be possible to evaluate the validity of the test and, as such, its relevance as a complementary screening method in patients with suspected acute porphyria attacks in the emergency ward.

Keywords: Rare Diseases, Genetic Diseases, Metabolic Diseases, Acute Porphyria, Inverted Ehrlich's Reaction, Hoesch Test, Screening

Lista de Abreviaturas

AD - Autossômica dominante

ADP – Porfíria por défice de ácido 5-aminolevulínico desidratase

AIP – Porfíria intermitente aguda

ALA – Ácido 5-aminolevulínico

ALAD –Ácido 5-aminolevulínico desidratase

ALAS1 - Ácido 5-aminolevulínico sintetase tipo-1

ALAS2 - Ácido 5-aminolevulínico sintetase tipo-2

AR - Autossômica recessiva

CHUP – Centro Hospitalar Universitário do Porto

COPRO – Coproporfirinogénio

CPOX - Coproporfirinogénio-oxidase

DMAB - 4-dimetilaminobenzoaldeído

HCP - Coproporfíria hereditária

HGSA – Hospital Geral de Santo António

HMB – Hidroximetilbiliano

HMBS – Hidroximetilbiliano-sintetase/Porfobilinogénio-desaminase

PBG – Porfobilinogénio

PROTO – Protoporfirinogénio

PPOX – Protoporfirinogénio-oxidase

SNC – Sistema Nervoso Central

SU – Serviço de urgência

URO –Uroporfirinogénio

UROD – Uroporfirinogénio-descarboxilase

UROS – Uroporfirinogénio-sintetase

VP - Porfíria variegata

Índice

1.	OBJETIVOS.....	2
2.	ESTADO DA ARTE	3
3.	TAREFAS	13
3.1.	DESIGNAÇÃO DA TAREFA.....	13
3.2.	RESULTADOS ESPERADOS	13
3.3.	DESCRIÇÃO DA TAREFA.....	14
4.	ORÇAMENTO PREVISTO PARA EXECUÇÃO DO PROJETO	20
5.	BIBLIOGRAFIA.....	21
6.	ANEXOS.....	25

1. Objetivos

O principal objetivo deste projeto constitui na identificação de crises agudas de porfiria através do teste qualitativo de Hoesch, aplicado nos doentes que recorrem ao serviço de urgência (SU) com dor abdominal cuja investigação etiológica adequada foi inconclusiva - causa indeterminada. Um algoritmo de suspeita clínica será aplicado nestes casos e, em caso de teste positivo, estará previsto um protocolo terapêutico de atuação proporcionando uma abordagem dirigida ao doente. Neste sentido, todos os doentes identificados terão acesso a um tratamento adequado.

Adicionalmente, está prevista a implementação de um estudo observacional nos doentes atendidos no SU nos quais se irá aplicar o algoritmo de suspeita clínica e realizar o teste de Hoesch. Trata-se de um estudo epidemiológico que permitirá estimar a incidência da doença, caracterizar a amostra em análise, bem como possibilitar o cálculo do valor preditivo positivo do teste Hoesch quando aplicado na amostra – objetivo secundário do projeto. A hipótese deste estudo questiona se a protocolização de um método simples de triagem de crises de porfiria aguda, aplicado a todos os doentes que recorrem ao SU com dor abdominal de etiologia indeterminada, facilitará a identificação destes doentes.

O desenvolvimento deste projeto está dependente da colaboração do Serviço de Urgência do Hospital Geral de Santo António (HGSA), parte do Centro Hospitalar Universitário do Porto (CHUP), assim como os serviços que prestam apoio ao mesmo. O protocolo foi fundamentado no *Estudio PAGORA* [1], estudo multicêntrico aplicado a nível nacional em Espanha, e pretende importar e adaptar a sua abordagem à realidade local.

2. Estado da Arte

Considerações Iniciais

As porfirias são um grupo de doenças metabólicas causadas por alterações enzimáticas na cascata de biossíntese do heme. [2] Esta via, constituída por 8 passos enzimáticos, ocorre ao nível do sistema eritroblástico (80%) e fígado (15%), mas também outros tecidos (5%) – Anexo I. O processo é regulado através de duas isoenzimas, transcritas por dois genes distintos – ácido 5-aminolevulínico sintetase tipo-1 (ALAS1) no fígado, e ácido 5-aminolevulínico sintetase tipo-2 (ALAS2) nas células eritroides. [3]

O heme sintetizado nas células eritroides é integrado na molécula da hemoglobina, que incorpora 85% da síntese diária de heme, sendo responsável pela ligação e transporte do oxigénio na corrente sanguínea. No fígado, cerca de 80% do heme produzido é incorporado em citocromos, como, por exemplo, o citocromo p450, participando no metabolismo de fármacos, e citocromos mitocondriais, com função de transporte de eletrões no ciclo de Krebs. Os restantes 20% produzidos a nível hepático são incorporados em enzimas como a triptofano-pirolase (responsável pela oxidação de triptofanos), a óxido nítrico-sintetase (síntese de óxido nítrico), a catalase e peroxidase (metabolismo do peróxido de hidrogénio), entre outras. [3]

Cada porfiria está associada à perda de função de uma enzima específica ou, num tipo particular, ganho de função, cursando com um padrão característico de acumulação dos precursores do heme: ácido 5-aminolevulínico (ALA), porfobilinogénio (PBG), e intermediários da porfirina ou porfirinas. [4] As porfirias são classificadas de acordo com o local primário de sobreprodução e acúmulo destes precursores – hepatócitos ou células eritroides da medula óssea – cujo potencial tóxico é responsável pela característica sintomatologia neurovisceral, fotossensibilidade cutânea, ou ambas - Anexo II. [5]

Atualmente, são consideradas 8 porfirias *major*, distribuídas em 3 grupos: 4 porfirias hepáticas agudas, uma porfiria hepática cutânea, e 3 porfirias eritropoéticas cutâneas. [6]

As porfirias hepáticas agudas englobam a porfiria aguda intermitente (AIP), a porfiria variegata (VP), e a coproporfiria hereditária (HCP), todas com transmissão hereditária autossómica dominante das mutações enzimáticas, e a porfiria por défice de ALA-desidratase (ADP), autossómica recessiva. [5] Deste grupo, a AIP é o tipo mais comum

com prevalência clínica estimada em 1/75 000 na Europa (excluindo a Suécia, com prevalência de 1/1 000 – efeito fundador). Contrariamente, a ADP tem apenas 10 casos registados mundialmente. [2] [7] [8] A VP tem metade da prevalência da AIP na maioria dos países europeus, sendo epidemiologicamente relevante na África do Sul devido ao efeito fundador. [8] [9] Devido à penetrância incompleta e variabilidade da expressão do fenótipo clínico, a ausência de história familiar é comum. [10] A principal manifestação das porfírias agudas são crises neuroviscerais, mais comuns no sexo feminino, potencialmente fatais (~1%), surgindo tipicamente após a puberdade, usualmente entre as 2ª e 4ª décadas de vida, e afetando 10-20% dos doentes. [4] [10] Dor abdominal intensa e difusa (sintoma cardinal, presente em 85-95% dos casos), náuseas e vômitos, fraqueza, e obstipação são os sintomas mais observados durante uma crise aguda. Hipertensão, taquicardia e sudorese, causadas pela sobre ativação autonómica; efeitos sobre o sistema nervoso central (SNC), como *delirium* e convulsões; e hiponatremia, atribuída a nefrotoxicidade ou secreção inapropriada de hormona antidiurética, podem igualmente surgir. Lesões de fotossensibilidade cutânea estão descritas na VP (50%) e HCP (<20%), não exclusivamente em contexto de crise aguda. As crises mais severas poderão progredir para neuropatia motora e encefalopatia com fraqueza, paresia, distúrbios psiquiátricos ou comportamentais. Os doentes com polineuropatia avançada ou encefalopatia, poderão apresentar dor abdominal mais discreta, passível de ser mal interpretada. [3] [5] [11] [12] [13]

Durante uma crise aguda, a ALAS1, isoforma hepática da primeira enzima da via de biossíntese do heme, é induzida. A transcrição de ALAS1 em hepatócitos normais é regulada através *feedback* negativo em função da quantidade do produto final, o heme. A inibição metabólica da via limita a produção de heme, resultando na estimulação de ALAS1. Consequentemente, verifica-se aumento da produção de precursores do heme, com a finalidade de superar o bloqueio metabólico, contribuindo para o acúmulo do substrato da enzima afetada. Este mecanismo perdura até o déficit de heme ser corrigido. [2] [5] Fatores ambientais, fisiológicos e genéticos interagem para alterar a restrita regulação da biossíntese do heme, causando doença. [6] Inclusivamente, doentes com porfírias hepáticas agudas poderão nunca ser sintomáticos, se jamais expostos a qualquer fator indutor da ALAS1. [5] Os principais fatores precipitantes de crise aguda constituem a medicação (usualmente de prescrição recente, incluindo antibióticos, contraceptivos orais e anti convulsivantes – para mais informações, consultar a *Drug Database for Acute*

*Porphyria*¹) e restrição da ingestão calórica. A cirurgia, toxinas ambientais, álcool, drogas ilegais, infecção, stress ou flutuações das concentrações de hormonas sexuais (especialmente a progesterona – por exemplo, na fase lútea do ciclo menstrual e gravidez) são porfirinogénicos igualmente reconhecidos. Entre os doentes, observa-se frequências aumentadas de doenças crónicas como neuropatia periférica, hipertensão arterial ou doença renal crónica. Identicamente, está descrito um aumento do risco de hepatocarcinoma, história de internamento e cirurgia abdominal prévia (em concreto, apendicectomia ou colecistectomia). [4] [10] [13]

O tratamento é eficaz na crise aguda, mas também, em certos contextos, na profilaxia da recorrência, e consiste em fornecer o heme, que exerce um efeito supressor sob a reação limitadora da via metabólica. A formulação disponível é o arginato de heme, prescrito numa dose de 3 mg/Kg/dia em perfusão lenta (15 minutos), por via endovenosa (preferencialmente, em veia central ou antebraquial de grande calibre), durante 4 dias. A sua eficácia é inversamente proporcional ao atraso diagnóstico, contribuindo este para um pior *outcome*, maior necessidade de cuidados intensivos, reabilitação e recidiva. [4] [11] [13] [14] A remoção de fatores precipitantes, analgesia eficaz e controlo sintomático, cuidados nutricionais (alta ingestão de hidratos de carbono) e fluidoterapia adequada são abordagens complementares igualmente relevantes. [11]

O diagnóstico de porfíria aguda é particularmente desafiante pela inespecificidade da clínica e depende da implementação de testes bioquímicos apropriados dentro de uma janela de tempo específica. Frequentemente, os clínicos não estão familiarizados com as amostras e testes necessários, e o diagnóstico é subordinado ao aconselhamento laboratorial para orientar a investigação. [4] Na maioria dos casos, observa-se cerca de 15 anos de atraso entre as primeiras manifestações e o diagnóstico, que somente é considerado após exclusão de todas as alternativas, [4] [10] com importantes consequências para os doentes.

¹ A *Drug Database for Acute Porphyria* contém avaliações de especialistas sobre o potencial de fármacos para provocar crises de porfíria aguda. Elaborada e gerida pelo Centro Norueguês para a Porfíria (NAPOS) em colaboração com a *European Porphyria Network*. Disponível online para consulta em: “<http://www.drugs-porphyria.org>”.

Cada hospital deveria ter acesso a métodos simples e fiáveis que possibilitam a exclusão da doença ou identificação dos casos que compelem a posterior investigação. [15] Os serviços de urgência devem ser sensibilizados para o facto de episódios recorrentes de dor abdominal ou confusão mental inexplicável poderem constituir uma crise aguda de porfíria. Apenas o rastreio da doença permitiria estudar a prevalência da doença, atualmente desconhecida em Portugal. [8] [9]

A investigação inicial deve ser guiada com base no quadro clínico. Tendo em conta a grande variabilidade de sintomatologia, que conduz à sua inclusão como diagnóstico diferencial de múltiplas patologias, o propósito do laboratório é, muitas vezes, excluir a porfíria como etiologia possível. [4] [15]

Numerosos testes estão disponíveis para o diagnóstico de porfíria. Como consequência, poderá ser complexo seleccionar os testes mais adequados e interpretar os seus resultados, resultando em atraso no diagnóstico. A abordagem melhor e menos dispendiosa consiste na utilização de métodos de rastreio. Se um teste de rastreio convenientemente seleccionado é negativo, a hipótese de porfíria será descartada. Se o teste for positivo, outros testes são requeridos para posterior investigação da doença. [11] [16] [17] [18]

Conceptualmente, a melhor forma de diagnosticar a doença é estimar o défice de atividade enzimática. No entanto, estes processos são analiticamente complexos devido aos diversos substratos e/ou produtos (potencialmente instáveis) das enzimas, bem como pela sua localização mitocondrial, que exige cultivo em fibroblastos ou linfócitos. Como tal, não são considerados para a abordagem inicial na investigação de doença aguda. [19]

Dependendo do tipo de porfíria, os intermediários em excesso são produzidos e acumulam-se, primeiro no fígado ou na medula óssea, e posteriormente no sangue. De acordo com a enzima afetada, diferentes precursores do heme e seus derivados serão excretados, dependendo da sua solubilidade, na urina e/ou fezes. [5] [16] Sintomas causados pela porfíria são invariavelmente acompanhados pelo aumento detetável da produção e excreção destes precursores. [15] Os testes diagnósticos a realizar perante uma suspeita de porfíria são baseados na determinação dos precursores das porfirinas, PBG e ALA, e porfirinas urinárias, fecais, eritrocitárias e plasmáticas. Quantidades

elevadas destes marcadores bioquímicos segundo um padrão característico em diferentes amostras biológicas estabelecem o diagnóstico, indicando o tipo de porfiria. [3]

As crises de porfiria aguda manifestar-se-ão bioquimicamente pela excreção urinária aumentada de PBG e, num grau menor, ALA (com exceção na ADP, associada à excreção normal de PBG). [5] [6] Como tal, a demonstração de PBG urinário tem um papel categórico na investigação inicial de um caso suspeito de crise porfírica. [6] [15] O valor absoluto de PBG passível de causar sintomatologia não está definido, por conseguinte, os resultados devem ser interpretados criticamente segundo o contexto clínico. [4]

Após a crise aguda, os valores de PBG diminuem gradualmente. Consequentemente, tal como na porfiria aguda latente (doença sem história de qualquer manifestação sintomatológica), as concentrações dos metabolitos poderão ser normais durante a remissão. [15] Nestes casos, a sua investigação requer uma abordagem alternativa. Na VP e HCP, o PBG urinário poderá normalizar rapidamente, em cerca de uma semana após a resolução da sintomatologia. Nestas circunstâncias, quando se verifica um atraso na recolha de amostras, a medição do PBG urinário poderá não ser suficiente para excluir porfiria aguda e será útil a mensuração das porfirinas urinárias. Se aumentadas, dever-se-á analisar as porfirinas fecais ou plasmáticas. [4] [11]

A medição de porfinas totais urinárias (TUP), isoladamente, não é útil e poderá ser enganadora. As concentrações poderão estar aumentadas, quer quando o PBG está presente em excesso, por vitro polimerização do PBG em uroporfirina, quer na presença de condições como doença hepatobiliar ou alcoolismo. [15] [20] De um modo geral, a análise das porfirinas apenas é necessária para o diagnóstico de porfirias com fotossensibilidade cutânea. [5]

Testes de Rastreio Inicial

Colheita de Amostra Biológica: uma amostra de urina fresca da manhã (~ 10-20 mL) protegida da luz e recolhida enquanto o doente apresenta sintomas é recomendada para a abordagem inicial. Amostras de urina de 24h oferecem poucos benefícios, uma vez que atrasam desnecessariamente o diagnóstico e poderão estar associadas a coleção incompleta e armazenamento inadequado com interferência sobre os resultados. [4] As porfirinas urinárias poderão diminuir até 50% se expostas à luz durante 24h. Como tal, se

requerido, todas as amostras enviadas para laboratório devem ser expedidas até 24h e eficientemente protegidas da luz como forma de prevenir a degradação das porfirinas. Amostras poderão ser conservadas até 48h se acondicionadas no escuro a 4°C, ou até 1 mês se preservadas a -20°C, uma vez que o PBG e porfirinas urinárias são estáveis nestas condições. [4] [15]

A urina de indivíduos saudáveis contém concentrações $<1,5 \mu\text{mol PBG}/\text{mmol creatinina}$ ($<10 \mu\text{mol/L}$). Na maioria dos doentes com uma crise de porfiria aguda, as concentrações de PBG, uma semana após o início dos sintomas, no mínimo, serão dez vezes superiores ao limite normal. Nestas concentrações, as amostras de urina poderão exibir uma coloração vermelha-acastanhada algo variável (nem sempre presente), produzida pela condensação de PBG em porfobilina, porfirinas e outros compostos. [21] [22]

O método preferencial para a medição de PBG urinário é a quantificação do condensado de coloração vermelha (pico de absorção no espectro de 553 nm) resultante da sua reação em meio ácido com o 4-dimetilaminobenzoaldeído (DMAB) ou reagente de Ehrlich [15] – reação de Ehrlich. No entanto, outras substâncias presentes na urina, como o urobilinogénio, poderão reagir com este composto originando produtos de coloração semelhantes, ou inibir a reação em causa. Estas substâncias deverão ser idealmente eliminadas ou neutralizadas. [15] [21] [23]

Métodos Qualitativos: permitem separação do composto PBG-Ehrlich e do complexo urobilinogénio-Ehrlich por extração com solvente. Apesar de criticados pela sensibilidade e especificidade limitadas continuam a ser amplamente utilizados por constituírem alternativas rápidas e baratas. [15] [24] Esta abordagem foi primariamente descrita por Watson e Schwartzs em 1941, modificada em 1964, e estruturada através de um procedimento com diversas etapas. O número de reagentes, o tempo de execução e a falta de treino na interpretação do resultado limitam o emprego desta técnica em contexto clínico. [5] [23] Alternativamente, o teste de Hoesch, descrito em 1947, [25] constitui um procedimento mais simples, rápido e barato de excluir a suspeita clínica de porfiria, revelando benefício em relação ao método inicial de Watson-Schwartzs. [9] [23] Ambos procuram a supressão da reação cruzada Ehrlich-urobilinogénio por metodologias diversas. Watson-Schwartzs promove a reação de Ehrlich e, sequencialmente, remove a

coloração atribuída à reação cruzada através da extração em clorofórmio e *n*-butanol [26]. Hoesch concretiza o mesmo resultado através da adição de um pequeno volume de urina para um grande volume de aldeído, mantendo a acidez da solução - reação de Ehrlich invertida. [23] O limite mínimo de detecção de PBG na urina por estes métodos é estimado em 50 $\mu\text{mol/L}$ (inferior aos níveis excretados durante uma crise aguda). [22]

Compostos como indóis e ácido indolacético, fármacos como a metildopa e cloridrato de fenazopiridina, ou estágio final de desnutrição no alcoolismo poderão interferir com a interpretação do teste de Hoesch induzindo um resultado falso-positivo. [27] Todavia, o teste de Hoesch não deteta valores normais de PBG urinário. Apenas perante as elevadas concentrações observadas em crises porfíricas o resultado é positivo. Com efeito, Doss aplicou o teste a 300 doentes com doença hepática crónica, porfíria cutânea tarda, intoxicação por chumbo e polineurite, e aferiu resultados uniformemente negativos. [23]

A referenciação de amostras para confirmação quantitativa quando os PBG urinários são positivos é essencial para o diagnóstico definitivo. Perante resultados de PBG urinário negativos e alta suspeição clínica dever-se-á repetir a sua determinação por um método quantitativo, juntamente com a ALA urinária, porfirinas plasmáticas e fecais. [4] [15] Se os resultados forem negativos, a porfíria aguda é excluída.

Métodos Semi-quantitativos: são baseados na utilização de resinas de troca iónica para remover os cromogéneos interferentes e permitir a reação de Ehrlich. Paradigma desta abordagem, o kit Trace PBG[®] demonstra sensibilidade e especificidade satisfatórias para ser utilizado na investigação inicial da doença e constitui uma opção válida em análises urgentes. Este método apresenta sensibilidade e especificidade superiores, e limite de detecção inferior (25 $\mu\text{mol/L}$) aos métodos qualitativos por extração com solvente. Em termos económicos, cada kit comercial está estimado em aproximadamente €22,50 (BioRad Laboratories). [17] [22] [24] [28]

Espectroscopia de emissão de Fluorescência do plasma: A espectroscopia de emissão de fluorescência do plasma é considerada uma prova rápida de rastreio. Um pico máximo detetável de, aproximadamente, 626 nm, é diagnóstico para VP. Este tipo de porfíria será excluído se o pico máximo não estiver contido no intervalo 624-627nm. Devido ao seu pico de emissão comum (620 nm), este teste não permite realizar o diagnóstico diferencial entre AIP e HCP. Em relação aos demais, o inconveniente deste

procedimento prende-se com a necessidade de uma amostra de sangue (~5 mL) preferencialmente recolhida para um tubo com anticoagulante EDTA. [4] [16] [18]

Testes Confirmatórios

Se o resultado do teste de rastreio inicial for positivo, é indispensável a aplicação de outros métodos complementares para estabelecer o diagnóstico definitivo e tipo de porfíria. De uma forma geral, os testes de rastreio são considerados “primeira linha”, e os testes realizados em caso de positividade do *screening* inicial (ou confirmatórios) serão “segunda linha”. A consulta com um especialista em porfíria pode ser útil para seleccionar e interpretar os testes que devem seguir um teste de rastreio positivo. [4] [16] [15]

Métodos Quantitativos de medição do PBG urinário: constituem os métodos mais sensíveis e específicos para a remoção das substâncias responsáveis pela reação cruzada com o composto de Ehrlich e deteção do PBG. Apesar disso, este processo é fundamentado numa técnica de cromatografia em colunas de troca aniónica, um processo marcadamente demorado, não devendo ser utilizados como teste de *screening*. [19] [21] [24] Um resultado positivo num método de avaliação qualitativo ou semi-quantitativo deve ser seguido por uma quantificação de PBG o mais precocemente possível (idealmente, em menos de 24h e utilizando a mesma amostra convenientemente conservada), como forma de excluir falsos positivos e confirmar inequivocamente o diagnóstico. O tratamento não deve ser protelado em favor do diagnóstico definitivo em casos de sintomatologia severa. [11]

Avaliações quantitativas (PBG e TUP) devem ser expressas através de ratios com a concentração de creatinina urinária. Os resultados de amostras de urina diluída (creatinina urinária < 2.0 mmol/L) devem ser cuidadosamente interpretados, idealmente reavaliadas na manhã seguinte aplicando métodos quantitativos e qualitativos. [4] Alguns doentes com porfíria aguda poderão ter níveis de PBG urinário persistentemente elevados (80% dos casos de AIP). Interpretações dos resultados nestes doentes são complexas pois requerem comparação do ratio PBG/creatinina basal com valores precedentes e avaliação clínica. [11] [12] [19]

Porfirinas Fecais: deverá ser recolhida uma amostra de fezes (peso líquido: 5-10g) para um recipiente apropriado para o efeito. Tal como na urina, as fezes deverão ser

conservadas sem exposição à luz ambiente e serão estáveis durante um período aproximado de 1 mês à temperatura de -20°C. Apesar disso, se sujeitas à temperatura ambiente e analisadas num período inferior a 36 horas, raramente se observam modificações consideráveis na concentração de porfirinas. Estudos quantitativos de fezes ajudam a diferenciar entre HCP e VP porque estes distúrbios têm perfis idênticos de porfirinas na urina. Na HCP estão presentes concentrações mais elevadas de coproporfirina segundo uma proporção de isomérica III/I > 2,0. A VP está associada a concentrações aumentadas de protoporfirina e, em menor extensão, de coproporfirina. [4] [18] [29]

Atividade enzimática: a sua avaliação raramente é essencial para o diagnóstico preciso de porfíria. A medição da atividade da HMBS eritrocitária (hidroximetilbiliano-sintetase eritrocitária) poderá ser útil no diagnóstico da AIP, contudo, valores normais não são eliminatórios. [18]

Se PBG e ALA urinários, concentração de porfirina plasmática e excreção fecal de coproporfirina III forem normais por métodos confirmatórios, a hipótese de porfíria aguda é excluída do diagnóstico. Independentemente da prova utilizada, uma amostra de urina normal e uma amostra de controlo com PBG aumentado devem ser incluídas em cada teste para controlo de qualidade. [16] [22]

Estudo Molecular

De um modo geral, assim que o diagnóstico bioquímico está estabelecido, deverá realizar-se uma análise génica para detetar mutações causais específicas. [6] Esta abordagem está disponível para o diagnóstico e definição precisa de cada tipo de porfíria (para mais informações, consultar *Human Gene Mutation Database*²). A avaliação permite confirmar ou excluir definitivamente o diagnóstico com elevado grau de certeza. [5] A sensibilidade para deteção da mutação dos genes HMBS (AIP), CPOX (HCP) e

² O *Human Gene Mutation Database* representa uma tentativa de recolher lesões de genes conhecidas (devidamente publicadas) responsáveis por doenças hereditárias humanas. Mantido por D.N. Cooper, E.V. Ball, P.D. Stenson, A.D. Phillips, K. Evans, S. Heywood, M.J. Hayden, M.E. Mort e M. Hussain, no *Institute of Medical Genetics*, parte da *Cardiff University*. Disponível online para consulta em: “<http://www.hgmd.cf.ac.uk>”.

PPOX (VP) é estimada entre 97-100%. [3] No entanto, estas pesquisas são irrelevantes para avaliar a síndrome clínica ou a severidade da doença. [5]

A análise do ADN que identifica mutações é o método escolhido para estudos familiares (investigação em familiares do caso índice) e estabelecer o diagnóstico em portadores assintomáticos (porfiria latente), que apresentam risco de desenvolver doença ativa, oferecendo aconselhamento, por exemplo, sobre a evicção de fatores porfirinogénicos. A sua aplicação a nível populacional não é recomendada, com exceção de locais com alta prevalência. [3] [5] [6]

A reação em cadeia de polimerase (PCR) e sequenciamento direto dos exões analisados e das *flanking regions* é o tipo de análise mutacional mais comum, usualmente suficiente para detetar mutações *missense*, *nonsense*, *frameshift* e *splice*. Para detetar grande deleções ou duplicações são recomendadas a ampliação por sonda multiplex dependente de ligação (MLPA) ou dosagem de genes por PCR de fluorescência. [3] [4] [6] [18]

3. Tarefas

3.1. Designação da tarefa

A disponibilidade de uma prova de rastreio simples, rápida e de baixo custo para o rastreio de porfíria aguda constitui uma ferramenta útil para o diagnóstico e, consequentemente, para o tratamento mais adequado dos doentes. O teste de Hoesch, considerado neste projeto, cumpre os critérios de sensibilidade e especificidade adequados para a sua utilização como teste de rastreio das crises agudas de porfíria no SU. Um teste confirmatório quantitativo está disponível no Hospital Geral de Santo António e deverá ser realizado *a posteriori* em caso de positividade no doseamento dos PBG urinários.

3.2. Resultados esperados

Em Portugal, a porfíria é uma patologia pouco investigada e são escassos os dados da sua epidemiologia a nível nacional. Por um lado, poderá inferir-se que os resultados serão idênticos à realidade europeia (excluindo a Suécia, pelo efeito fundador), por outro, não existe qualquer estudo sobre a realidade portuguesa e apenas a introdução de um método de rastreio, como o Teste de Hoesch, contribuirá para a caracterização da patologia no país.

Relativamente à implementação do algoritmo diagnóstico, sendo as porfírias agudas um grupo de patologias raras e a dor abdominal uma causa muito prevalente de recurso ao SU, esperar-se-á a realização de múltiplos testes de Hoesch cujo o resultado é negativo. Apesar disso, não deverá ser menosprezada a importante utilidade do teste em excluir a crise aguda de porfíria como etiologia possível da dor abdominal.

Assumindo total colaboração dos serviços envolvidos, cumprimento do algoritmo e protocolo terapêutico, presumivelmente todos os casos de crise aguda de porfíria que forem avaliados no SU serão identificados e tratados. Tal facto contribuirá para a diminuição do tempo de latência, por norma elevado, entre a primeira manifestação clínica da doença e o diagnóstico/tratamento. No entanto, “falso-positivo” e “duvidoso” são resultados possíveis que, ultimamente, serão estudados na consulta e detetados.

De uma forma geral, espera-se que este estudo apresente um impacto positivo na identificação, diagnóstico e tratamento das crises de porfíria aguda. Presumivelmente,

possibilitará a estimativa da incidência da patologia, cálculo do valor preditivo positivo do teste e caracterização da população em risco. Caso não seja possível atingir a significância epidemiológica desejada, poderá ser relevante a extensão do estudo para outros centros hospitalares em Portugal.

3.3. Descrição da tarefa

O teste de Hoesch consiste na adição de duas gotas de urina fresca do doente a 1 mL de reagente de Ehrlich (20g de DMAB diluído em 1 000 mL de CIH 6 mol/L). O resultado é considerado positivo (indicando a presença de PBG numa concentração igual ou superior a 10 mg/L) se a mistura adquirir, em poucos segundos, uma coloração vermelho-cereja (ver Figura 1), que surge na parte superior da solução, homogeneizada quando a mesma é agitada. Neste caso, a amostra deverá ser congelada para quantificação exata de PBG e outros metabolitos das porfirinas com o objetivo de confirmar o resultado do teste de rastreio (caso tal não seja possível, deverá ser recolhida nova amostra de urina para o efeito). O resultado negativo no teste de rastreio pressupõe a exclusão do diagnóstico de crise de porfiria aguda, enquanto o resultado positivo requiere a confirmação através de estudos adicionais por meio de métodos quantitativos para determinação de PBG.

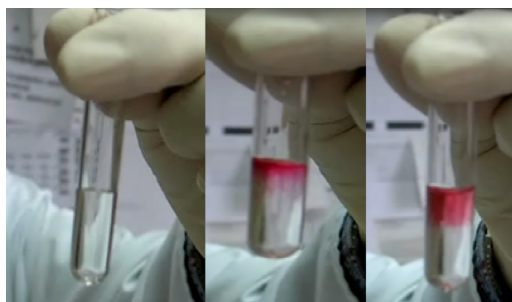


Figura 1 – Coloração do Teste de Hoesch Positivo

Desenho Geral do Estudo

Estudo transversal unicêntrico, realizado no SU, aplicado segundo as condições de prática clínica de rotina, efetuado mediante a aplicação de um protocolo sistemático sob a forma de um algoritmo para casos de suspeita de possível crise de porfiria aguda e realização de uma prova de rastreio não invasiva – Anexo III.

A subsequente gestão dos doentes será estabelecida de acordo com o resultado final do teste. Os casos positivos serão orientados para tratamento segundo protocolo previsto no Serviço de Urgência do HGSA. Os casos duvidosos serão avaliados em contexto de urgência ou consulta externa pelos médicos integrados na Unidade das Doenças Hereditárias do Metabolismo. Nos casos negativos há exclusão absoluta de crise aguda de porfíria e, por conseguinte, deverão prosseguir estudo no sentido de identificar causas alternativas.

Ações de divulgação formais e informais deverão ser realizadas junto dos profissionais de saúde do SU, informando e sensibilizando para a patologia em estudo e para o teste de Hoesch. O algoritmo de atuação será difundido como forma de identificar os doentes candidatos ao estudo e o reagente de Ehrlich estará disponível para a realização do teste (estável até 1 ano após a sua elaboração). O clínico deverá prescrever o teste de Hoesch segundo os achados clínicos e bioquímicos previstos no algoritmo, apenas identificando os doentes para posterior seleção e integração no estudo de acordo com os critérios de inclusão - Anexo IV.

A recolha das variáveis com interesse ao estudo, relativas ao doente, será realizada de modo estritamente observacional, através de posterior consulta do relatório da urgência e processo clínico do doente (Sistema de Apoio ao Médico[®], SClinico[®] e ALERT[®]) – Anexo V.

Crítérios de Inclusão

A seleção dos participantes será executada de modo não-probabilístico e consecutivo, incluindo os doentes de ambos os sexos e maiores de 18 anos com dor abdominal de causa indeterminada que preencham as condições previstas no algoritmo de suspeita clínica. Essas condições são: clínica compatível, nomeadamente, dor abdominal de causa indeterminada, na presença de alterações neurológicas sugestivas de porfíria (autónómicas: taquicardia, hipertensão arterial; periféricas: neuropatia aguda, manifestada por parestesias e/ou debilidade muscular; e centrais: ansiedade, agitação, depressão, estado confusional agudo, alucinações, convulsões, alteração do estado de consciência), associadas ou não a hiponatremia ($\text{Na} < 135 \text{ mg/dL}$). A suspeita de porfíria deverá ser concebida na ausência de um diagnóstico etiológico após aplicação dos exames

de rotina adequados (anamnese, exame físico, análise geral e imagiologia) de acordo com os protocolos previstos no SU do hospital.

Variáveis

Nos doentes cujo teste é realizado e cumprem os critérios de inclusão para o estudo, os dados serão registados numa folha específica: dados demográficos, história pessoal e familiar de porfíria, as características da dor abdominal, sintomas associados, fatores de risco, sinais vitais, testes de diagnóstico realizados, características gerais do episódio emergencial, o resultado do rastreio e, se for caso, a quantificação de porfobilinogénio.

Tamanho Amostral e Análise Estatística

Com o objetivo de poder analisar diferenças de $\pm 20\%$ nas variáveis qualitativas para uma proporção de incerteza máxima ($P=0,5$) com uma significância estatística de 0,05 e uma potência de 0,8, seria necessário identificar uma crise de porfíria aguda em 32 doentes. Considerando que todas as crises de porfíria aguda com dor abdominal serão corretamente avaliadas no SU do hospital e assumindo a sua incidência anual média na população geral de acordo com a média europeia, cerca de 1 caso ao ano por cada 200000 indivíduos, seria necessária uma cobertura de 6 400 000 indivíduos/ano. Este valor poderia ser alcançado incorporando um número de hospitais cuja área de influencia totalizasse esta porção da população num estudo durante o período de um ano, ou, alternativamente, prolongando a duração do estudo com o objetivo de alcançar a mesma cobertura através da multiplicação do número de indivíduos referenciados e o número de anos do mesmo. Apesar disso, é possível recalcular o tamanho da amostra através de uma análise intermédia com base nos dados obtidos no final do primeiro ano de estudo.

Na estatística descritiva das variáveis categóricas serão utilizadas as frequências absolutas e relativas por meio de percentagens. Para as variáveis qualitativas irão ser calculadas a média aritmética e desvio-padrão, caso sejam ajustáveis a uma distribuição normal, ou mediana e intervalo interquartil, no caso oposto. A prevalência da crise de porfíria e o valor preditivo positivo da prova de Hoesch serão estimadas com base em proporções e intervalos de confiança de 95%; no caso da prevalência, através de um denominador adequado e, no caso do valor preditivo, percentagem. O teste de hipóteses das variáveis categóricas utilizado será o Teste χ^2 ou, quando indicado, o Teste Exato de

Fisher. Para as variáveis quantitativas será utilizado o Teste t de Student nas amostras independentes, caso a variável se apresente segundo uma distribuição normal, ou o Teste t de Wilcoxon, caso contrário. Em todo o caso, a robustez das conclusões será comprovada, quer por testes paramétricos, quer testes não paramétricos, dado o pequeno tamanho da amostra. A força de associação será calculada através de *odds ratio* e respetivos intervalos de confiança de 95%. Os contrastes considerados serão sempre bilaterais para um nível de significância de 0,05 (erro tipo 1).

Considerações Éticas

Este é um estudo epidemiológico de carácter fundamentalmente observacional, sem interferência na prática clínica de rotina, no qual se sistematiza um teste de rastreio descrito, testado e aplicado há décadas. As únicas modificações planeadas estão relacionadas com a adequação do protocolo à realidade do centro hospitalar e divulgação sobre a importância de considerar a crise de porfíria aguda como diagnóstico diferencial da dor abdominal de causa desconhecida. O protocolo do estudo inclui a aplicação de um algoritmo que facilita o reconhecimento dos sinais suspeitos e o planeamento do diagnóstico. A relevância do rastreio, através da utilização de um teste que ajude no diagnóstico mesmo na ausência de sinais típicos, prende-se com o carácter inespecífico do quadro clínico da patologia, a sensibilidade e economia do teste, a potencial gravidade do atraso do diagnóstico e grande eficácia do tratamento correto. Para além disso, trata-se de uma prova não invasiva, requerendo simplesmente de umas gotas de urina do doente. Ainda que as porfírias agudas sejam patologias raras, a sua relevância epidemiológica em Portugal é desconhecida. Assim, este estudo poderá contribuir para o aprofundamento da investigação da realidade nacional para esta doença rara.

Todos os dados serão colhidos em função do código do doente, com o objetivo de assegurar a proteção da identidade e privacidade.

Nos doentes cujo teste de Hoesch é necessário, terá de ser obtido um consentimento informado por escrito – Anexo VI. Nas folhas de registo dos dados não constará qualquer informação identificativa do doente. Todos os dados serão recolhidos em função do código doente/episódio, cuja correspondência apenas é disponível para a equipa de assistência do hospital, com o objetivo de assegurar a proteção da identidade e privacidade. Não será necessária qualquer apólice de seguro de responsabilidade civil.

Os médicos investigadores e colaboradores não serão alvo de benefícios económicos resultantes da sua participação no estudo, no entanto, em função do seu contributo no mesmo, terão direito a autoria coletiva das possíveis publicações para difusão dos resultados.

O protocolo está sujeito à aprovação pelo Comité de Ética do Centro Hospitalar Universitário do Porto e respeitará a legislação em vigor inerentemente aplicável.

Questões práticas

Para a realização deste estudo será necessária a colaboração do SU e, para tal, será contactado o Serviço de Urgência do Hospital Geral de Santo António, pertencente ao Centro Hospitalar Universitário do Porto. Para além disso, serão realizadas sessões de esclarecimento junto dos profissionais com o objetivo de fornecer informação sobre o estudo e sobre o teste de rastreio. O algoritmo de atuação estará disponível para consulta no SU sob a forma de *poster*, permitindo consulta acessível pelos profissionais de saúde.

Este estudo poderá ser alargado a outros hospitais, cujo interesse seja demonstrado, podendo ser adaptado a uma estrutura multicêntrica centrada no CHUP. Neste caso, será responsabilidade de cada hospital a aplicação do algoritmo, fornecido pelo CHUP, no respetivo SU. Os diversos centros deverão remeter os dados recolhidos à equipa responsável pelo estudo no CHUP, como forma de promover a centralização dos dados.

Caso o estudo seja estendido a outros centros hospitalares, o reagente de Ehrlich deverá ser preparado de forma centralizada para assegurar a padronização. Uma vez produzido mantém-se estável durante pelo menos 1 ano, deverá ser assegurada a sua utilização apenas dentro deste prazo.

Limitações do estudo

O estudo tem como base a suposição que a crise de porfíria aguda se irá apresentar sempre com dor abdominal que implique a utilização do serviço de urgência, o que poderá excluir cerca de 5-15% destes eventos. Este facto poderá ser aceite tendo em conta a atual ausência de dados e será possível a sua correção mediante uma correta extrapolação. Para além disso, a ADP não será passível de ser identificada em primeira abordagem segundo

o algoritmo previsto neste estudo, constituindo uma limitação ao teste escolhido, que apenas identifica PBG na urina.

Além disso, é importante considerar a ausência de um controlo previsto para cada realização do teste como forma de contribuir para a manutenção da qualidade do teste.

Outra limitação poderá ser a falta de colaboração dos profissionais do serviço de urgência, que provavelmente não será um problema significativo, dada a simplicidade e conveniência do protocolo e utilidade clínica do método de rastreio envolvidos. No envolvimento de outros centros poderão surgir algumas dificuldades na implementação padronizada, bem como uma menor colaboração nos serviços de urgência, contudo, será o papel do responsável local assegurar a normal aplicação do protocolo. Perante o alargamento do estudo a outros centros de rastreio, será planeada uma visita inicial, assim como reuniões/contactos regulares.

4. Orçamento previsto para execução do projeto

Um dos principais benefícios na utilização do teste de Hoesch será o seu custo manifestamente reduzido em comparação com as alternativas. Não obstante, deverão ser equacionados gastos associados com recursos humanos e laboratoriais que poderão advir do desenvolvimento e aplicação do estudo. Nomeadamente, na preparação e manutenção de reservas do reagente utilizado, formação dos profissionais de saúde, prescrição do teste no SU, recolha das variáveis em estudo, construção e manutenção da base de dados e tratamento epidemiológico. Para além disso, caso se observem casos positivos, estão previstos custos indiretos. Em concreto, tratamento da doença, prescrição de métodos complementares de diagnóstico para estudo do tipo de porfíria, *follow-up* em consulta de Doenças Metabólicas Raras, e possível aconselhamento alargado à família com provável realização do estudo molecular. Por oposição, este projecto promove uma abordagem orientada e, por isso, concede diversas vantagens económicas. O diagnóstico será estabelecido ou excluído em múltiplos doentes com sintomas pouco específicos através de um número reduzido de exames, o que contribui para a sua rentabilidade em comparação com abordagens mais alargadas. Globalmente, a investigação dirigida evitará a instituição indiscriminada de métodos complementares mais complexos e dispendiosos, contribuindo para abreviar os custos médicos associados.

Em geral, o protocolo oferece diversos ganhos para a saúde. Quer ao nível individual, evitando novos recursos ao SU pela doença, prevenção de complicações associadas como intervenções cirúrgicas desnecessárias, e melhoria da qualidade de vida do doente. Mas também ao nível da saúde pública, contribuindo para a investigação e sensibilização de uma doença rara, pouco estudada no contexto português. Como forma de simplificação da orçamentação apenas será considerado o custo direto real do reagente utilizado. Cada 50 g de DMAB poderá ser adquirido por um valor aproximado de €50,00. Por conseguinte, considerando que para a produção de cada lote de 1 000 mL do reagente de Ehrlich serão empregues 20 g de DMAB, o custo do reagente será estimado em €0,02 por cada teste de Hoesch realizado (excluindo gastos relacionados com o ácido clorídrico, recipientes utilizados e recursos humanos exigidos). Concluindo, o custo direto associado ao teste de rastreio representará um encargo discreto no contexto do orçamento do hospital não obstante os custos indiretos associados, que poderão representar um ónus orçamental extraordinário significativo.

5. Bibliografia

- [1] J. D. García Díaz, “Protocolo de cribado de Porfiria Aguda en pacientes con dolor abdominal no filiado en urgencias,” Hospital Príncipe de Asturias, Alcará de Henares, 2012.
- [2] H. Puy, L. Gouya e J.-C. Deybach, “Porphyrias,” *Lancet*, vol. 375, nº 9718, p. 924–937, 13 Março 2010.
- [3] U. Szlendak, K. Bykowska e A. Lipniacka, “Clinical, Biochemical and Molecular Characteristics of the Main Types of Porphyria,” *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, vol. 25, nº 2, p. 361–368, 2016.
- [4] J. Woolf, J. T. Marsden, T. Degg, S. Whatley, P. Reed, N. Brazil, M. F. Stewart e M. Badminton, “Best practice guidelines on first-line laboratory testing for porphyria,” *Annals of Clinical Biochemistry*, vol. 54, nº 2, p. 188–198, 2017.
- [5] S. Sassa, “Modern diagnosis and management of the porphyrias,” *British Journal of Haematology*, vol. 135, nº 3, pp. 281-292, Novembro 2006.
- [6] M. Balwani e R. J. Desnick, “The porphyrias: advances in diagnosis and treatment,” *Blood*, vol. 120, nº 23, pp. 4496-4504, 29 Novembro 2012.
- [7] S. Thunell, Y. Floderus, A. Henrichson e P. Harper, “Porphyria in Sweden,” *Physiological Research*, vol. 55, nº 2, pp. S109-S118, 2006.
- [8] Orphanet, “Prevalência das doenças raras: Dados Bibliográficos,” Março 2016. [Online]. Available: <http://www.orpha.net>. [Acedido em Dezembro 2016].
- [9] F. Ferreira e L. Vilarinho, “Dor abdominal aguda como apresentação de porfirias,” *Boletim Epidemiológico Observações*, vol. 5, nº 7, pp. 29-32, 12 Maio 2016.

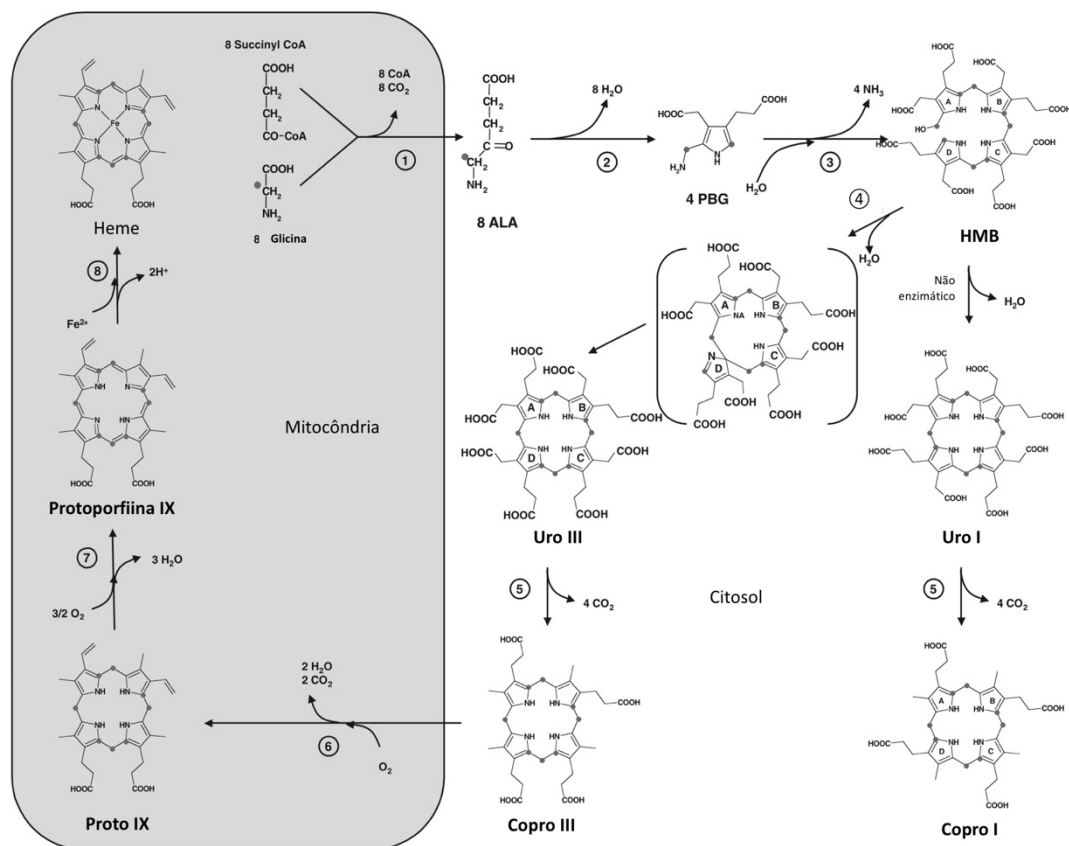
- [10] H. L. Bonkovsky, V. C. Maddukuri, C. Yazici, K. E. Anderson, D. M. Bissell, J. R. Bloomer, J. D. Phillips, H. Naik, I. Peter, G. Baillargeon, K. Bossi, L. Gandolfo, C. Light, D. Bishop e R. J. Desnick, “Acute Porphyrrias in the USA: Features of 108 Subjects from Porphyrria Consortium,” *American Journal of Medicine*, vol. 127, nº 12, p. 1233–1241, Dezembro 2014.
- [11] P. Stein, M. Badminton, J. Barth, D. Rees e M. F. Stewart, “Best practice guidelines on clinical management of acute attacks of porphyria and their complications,” *Annals of Clinical Biochemistry*, vol. 50, nº 3, pp. 217-223, Maio 2013.
- [12] R. Hoffman, E. J. Benz e L. E., *Hematology: Diagnosis and Treatment*, Filadélfia: Elsevier Health Sciences, 2012.
- [13] H. Thadani, A. Deacon e T. Peters, “Diagnosis and management of porphyria,” *British Medical Journal*, vol. 320, nº 7250, p. 1647–1651, 17 Junho 2000.
- [14] P. Mustajoki e Y. Nordmann, “Early administration of heme arginate for acute porphyric attacks,” *Archives of Internal Medicine*, vol. 153, nº 17, pp. 2004-2008, 13 Setembro 1993.
- [15] A. C. Deacon, T. K. With e G. H. Elder, “Front line tests for the investigation of suspected porphyria,” *Journal of Clinical Pathology*, vol. 54, p. 500–507, 2001.
- [16] American Porphyria Foundation, “Testing For Porphyria,” 2015. [Online]. Available: <http://www.porphyrriafoundation.com>. [Acedido em Janeiro 2017].
- [17] A. C. Deacon e T. J. Peters, “Identification of acute porphyria: evaluation of a commercial screening test for urinary porphobilinogen,” *Annals of Clinical Biochemistry*, vol. 35, nº 6, pp. 726-732, Novembro 1998.

- [18] G. H. Elder, S. G. Smith e S. J. Smyth, "Laboratory investigation of the porphyrias," vol. 27, nº 5, pp. 395-412, Setembro 1990.
- [19] J. T. Hindmarsh, "The porphyrias, appropriate test selection," *Clinica Chimica Acta*, vol. 333, nº 2, pp. 203-207, 15 Julho 2003.
- [20] J. M. Lamon, "Clinical aspects of porphyrin measurement, other than lead poisoning," *Clinical Chemistry*, vol. 23, nº 2, pp. 260-263, 1977.
- [21] D. Mauzerall e S. Granick, "The occurrence and determination of d-aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 219, nº 1, pp. 435-446, 1956.
- [22] European Porphyria Network, "Laboratory diagnosis," 2017. [Online]. Available: <http://www.porphyria.eu>. [Acedido em Janeiro 2017].
- [23] J. Lamon, T. K. e A. G. Redeker, "The Hoesch Test: Bedside Screening for Urinary Porphobilinogen in Patients with Suspected Porphyria," *Clinical Chemistry*, vol. 20, nº 11, pp. 1438-1440, Novembro 1974.
- [24] J. E. Buttery, B. R. Chamberlain e C. G. Beng, "A sensitive method of screening for urinary porphobilinogen," *Clinical Chemistry*, vol. 35, nº 12, pp. 2311-2312, Dezembro 1989.
- [25] K. Hoesch, "Ueber die Auswertung der Urobilinogenurie und die umgekehrte Urobilinogenreaktion," *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, vol. 72, nº 47-48, p. 704, Dezembro 1947.
- [26] J. E. Buttery, A. M. Carrera e P. R. Pannall, "Analytical sensitivity and specificity of two screening methods for urinary porphobilinogen," *Annals of Clinical Biochemistry*, vol. 27, nº 2, pp. 165-166, Março 1990.
- [27] C. A. Pierach, R. Cardinal, I. Bossenmaier e C. J. Watson, "Comparison of the Hoesch and the Watson-Schwartz tests for urinary porphobilinogen," *Clinical Chemistry*, vol. 23, nº 9, pp. 1666-1668, Setembro 1977.

- [28] D. J. Moore e R. F. Labbe , “A Quantitative Assay for Urinary Porphobilinogen,” *Clinical Chemistry*, vol. 10, nº 12, pp. 1105-11011, 1964.
- [29] E. Rossi, “Increased Fecal Porphyrins in Acute Intermittent Porphyria,” *Clinical Chemistry*, vol. 45, nº 2, pp. 281-283, Fevereiro 1999.

6. Anexos

Anexo I – Via Metabólica de Biossíntese do Heme



A via de biossíntese do heme é constituída por 8 etapas enzimáticas: 4 localizadas na mitocôndria e 4 no citosol. Apenas os isômeros tipo-III do Uroporfirinogênio e Coproporfirinogênio são metabolizados em heme.

ALA-ácido 5-aminolevulínico; PBG-porfobilinogênio; HMB-Hidroximetilbilano; URO I/III-Uroporfirinogênio isômero I/III; COPRO I/III-Coproporfirinogênio isômero I/III; PROTO IX-Protoporfirinogênio IX; ①-ALA sintetase; ②-ALA desidratase; ③-HMB sintetase; ④-URO sintetase ⑤-URO descarboxilase; ⑥-COPRO oxidase; ⑦-PROTO-oxidase; ⑧-Ferroquelase; CoA-coenzima A.

Adaptado de S. Sassa, 2006 [5]

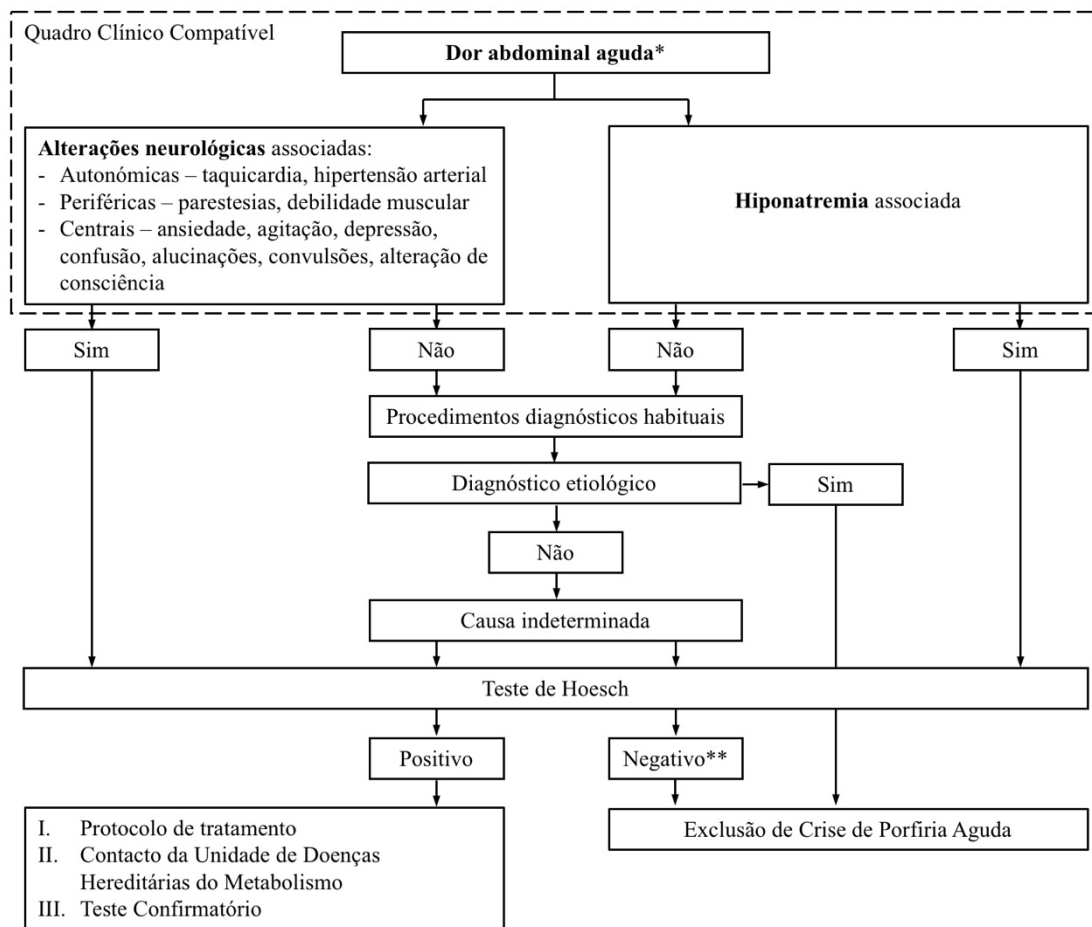
Anexo II – Tabela de apresentação clínica e perfil bioquímico das Porfirias Agudas

Porfirias Hepática Agudas		ADP	AIP	HCP	VP
Características Gerais	Hereditariedade	AR	AD	AD	AD
	Atividade enzimática	~5%	~50%	~50%	~50%
	Enzima Deficitária	ALAD	HMBS	CPOX	PPOX
Características Clínicas	Fotossensibilidade	Não	Não	Não	Não
	Fragilidade cutânea ou bolhas	Não	Não	Sim	Sim
	Crises Agudas	Sim	Sim	Sim	Sim
Bioquímica	Fezes	Normal	Normal	coproporfirina III (rácio III/I>2,0)	coproporfirina III<protoporfirina
	Urina	ALA, coproporfirina III	ALA< PBG , uroporfirina	ALA, PBG , coproporfirina III	ALA< PBG , coproporfirina III
	Eritrócitos	Zn-protoporfina	Normal	Normal	Normal

AR-Autossômica Recessiva, AD-Autossômica Dominante, ALAD – ALA-desidratase, HMBS – HMB-sintetase, CPOX-COPRO-oxidase, PPOX-PROTO-oxidase.

Adaptado de M. Balwani et al, 2012 [6]

Anexo III – Algoritmo de Suspeita Clínica



Quadro clínico compatível + Teste urinário qualitativo positivo para PBG é sugestivo de um diagnóstico de crise de porfíria aguda. Testes confirmatórios, realizados em segundo tempo, permitirão estabelecer o diagnóstico definitivo e identificar o tipo de porfíria. O tratamento não deve ser protelado em favor do diagnóstico definitivo em casos de sintomatologia severa.

*Dor Abdominal, frequentemente recorrente, associada ou não a sintomas digestivos e urinários.

**No caso de um teste negativo para o PBG poderá ser relevante o doseamento de ALA urinário da mesma amostra para o diagnóstico de ADP e outras patologias (Saturnismo, Tirosinemia Tipo-1).

Adaptado de *Estudio PAGORA* [1]

Anexo IX – Tabela para identificação dos doentes que realizaram o Teste de Hoesch
no Serviço de Urgência

Data (dd/mm/aaaa)	Código do Doente (colar vinheta)	Médico Responsável	Resultado do Teste de Hoesch Positivo (P) Negativo (N)	Consentimento Informado Sim (S) Não (N)

Anexo V- Folha para recolha de dados dos doentes que realizaram o Teste de Hoesch

Número do Episódio:	Sexo: M <input type="checkbox"/> /F <input type="checkbox"/>	Data Atual:
Idade:	Antecedentes de Porfíria: Sim <input type="checkbox"/> /Não <input type="checkbox"/>	
Raça:	Antecedentes Familiares de Porfíria: Sim <input type="checkbox"/> /Não <input type="checkbox"/>	

Quadro Clínico – Duração (horas):

Dor Abdominal		
Aguda <input type="checkbox"/>	Difusa <input type="checkbox"/> /Localizada - quadrante: SD <input type="checkbox"/> /SE <input type="checkbox"/> /IE <input type="checkbox"/> /ID <input type="checkbox"/>	
Recorrente <input type="checkbox"/>	Intensidade (0-10):	Contínua <input type="checkbox"/> /Intermitente <input type="checkbox"/>
Dor noutra localização <input type="checkbox"/> , especificar:		
Distensão Abdominal: Sim <input type="checkbox"/> /Não <input type="checkbox"/>	Irritação Peritoneal: Sim <input type="checkbox"/> /Não <input type="checkbox"/>	Ruídos Peristálticos: ↑ <input type="checkbox"/> /N <input type="checkbox"/> /↓ <input type="checkbox"/>

Sintoma	Sim	Não	Sintoma	Sim	Não	Sintoma	Sim	Não
Náuseas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Incontinência urinária	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Depressão	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vómitos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Retenção urinária	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Agitação	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Obstipação	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Urina escura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Confusão	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarreia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Parestesias/Disestesias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Alt. Estado de consciência	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Febre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Fraqueza muscular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Convulsões	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diaforese	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Insónias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Alucinações	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Disúria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Ansiedade	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Fator de Risco	Sim	Não	Fator de Risco	Sim	Não	Fator de Risco	Sim	Não
Alt. recente na medicação	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Restrição calórica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Stress psicológico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anti convulsivante	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Gravidez	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Toxina ambiental	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Antibiótico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Infeção	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cirurgia recente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Contraceptivo Oral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Consumo de álcool	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Sintomas pré-menstruais	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Teste de Hoesch: Positivo☐/Negativo☐

Se positivo, quantificação de PBG:	Momento de realização (horas desde chegada ao SU):
Cor Atribuída: Vermelho <input type="checkbox"/> / Laranja <input type="checkbox"/> / Amarelo <input type="checkbox"/> / Verde <input type="checkbox"/> / Azul <input type="checkbox"/>	
Destino: Alta para Internamento <input type="checkbox"/> / Consulta Externa <input type="checkbox"/> / Médico de Família <input type="checkbox"/> / Alta <input type="checkbox"/>	
Diagnóstico Final:	Tempo total de permanência no SU (horas):

Outros ECD	ECG <input type="checkbox"/> / Rx Tórax <input type="checkbox"/> / Rx Abdómen / Eco Abdominal / Eco pélvica/ginecológica <input type="checkbox"/> TAC Abdominal <input type="checkbox"/> / Outro <input type="checkbox"/> , especificar:	
Freq. Cardíaca (bpm):	Tensão Art. (mmHg):	Temperatura (°C):
Leucócitos Totais(c/mm ³):	Na _{plasmático} (mEq/L):	PCR(mg/L):
Hb(g/dL):	Outras alterações analíticas (especificar):	

Anexo VI – Consentimento Informado, Esclarecido e Livre do Doente

Apresenta-se no Serviço de Urgência com queixas de uma dor na região abdominal. Os profissionais de saúde que o atendem terão de realizar testes para procurar a sua origem e realizar o tratamento mais apropriado. A dor abdominal poderá ser causada por diversos motivos. Em casos muito raros, poderá ser causada por doenças metabólicas de transmissão genética, entre elas, a Porfíria Aguda. Neste sentido, foi realizado um teste, que consiste em misturar umas gotas de urina com um produto químico (Teste de Hoesch), e observou-se um resultado positivo. Este resultado não é definitivo, mas indica uma suspeita que a causa da dor abdominal será uma Porfíria Aguda.

A Porfíria Aguda é uma doença pouco conhecida em Portugal. Por isso, está a realizar-se um estudo centrado no serviço de urgência do Hospital Geral de Santo António para estudar o método de rastreio aplicado, avaliar a sua frequência e modo de apresentação da doença. A sua participação consiste, exclusivamente, em aceitar a recolha dos dados sobre a forma de apresentação, sintomas e fatores de risco da doença, bem como os resultados dos testes realizados para chegar ao diagnóstico. O tratamento e procedimentos para confirmar o diagnóstico serão realizados de acordo com a prática clínica normal. Todos os dados serão mantidos confidenciais e a sua identidade apenas será transmitida à equipa de investigação do estudo constituída por profissionais de saúde. O doente é salvaguardado de qualquer benefício ou prejuízo independentemente da decisão final.

Este consentimento é revogável em qualquer altura, sem sujeição a qualquer formalidade, de acordo com a Norma nº 015/2013 de 03/10/2013, atualizada a 04/11/2015, da Direção Geral de Saúde.

Serve o presente documento para atestar que eu, _____, portador do BI/CC: _____, confirmo o acesso à informação oral e escrita sobre o referido estudo, reputo que todas as explicações e o tempo de reflexão de que necessitava para a aceitação explícita me foram concedidos e concordo em participar no referido estudo.

(Assinatura e número de cédula profissional do médico)